

# サイレージの調製法に関する研究

(第12報) 抗生物質およびギ酸カルシウム混合剤添加の効果

須藤 浩・内田 仙二・三宅 一憲

## Studies on Silage-Making

### XII. The Effects of Adding Antibiotics or Kylage at the Ensiling Time

Hiroshi SUTOH, Senji UCHIDA and Kazunori MIYAKE

In order to confirm the effects of antibiotics and kylage (a mixture of Ca-formate, sodium nitrite and other substances) as additives, Italian ryegrass was ensiled with 5 ppm bacitracin, with 5 ppm neomycin and with 0.28 % kylage respectively. Three lots of these additives as well as that of 2% glucose added, and that of no-additive as a control were set up as shown in the Table 2. The small scale silos used were made of glass (cf. Table 2). The changes during storage were carefully observed and the quality of the resulted silages was examined by estimating organic acids, pH values, provitamin A and chemical composition. Moreover the digestibility of these samples was determined by feeding them to a goat.

The results obtained were summarized as follows :

- 1) It was observed that top spoilage during storage decreased slightly by the use of these additives.
- 2) The score of the fermentative quality of the resulted silages was 83 in the kylage-lot, 66 in the bacitracin-lot and 47 in the control-lot, while 38 in the neomycin-lot. Neomycin had no effect on improvement of quality of silage.
- 3) The addition of bacitracin had a slight effect, but had no effect on improvement of digestibility as in the case of neomycin.
- 4) In the grass with the optimum moisture content, the addition of kylage had an effect on improvement of silage quality, though the ineffectiveness had been reported in the high moisture grass.
- 5) When glucose (2 %) as the standard additive (100) was used, additive efficiency was 77 in kylage, 40 in bacitracin and -19 in neomycin.
- 6) Simple tests for the palatability of the resulted silages with cattle, sheep, goats and rabbits showed that the glucose-silage had better palatability than others, though there was not seen any significant difference of palatability between other four silages.

## 緒

## 言

サイレージを安全に確実に調製するため、望ましくない微生物を拮抗して、サイロ内の発酵を安全に保持する目的をもって、抗生物質の添加が行なわれるようになってきた。

DEXTER<sup>1)</sup> はアルファに Terramycin, Neomycin, Penicillin Bacitracin, Aureomycin (各2~5 ppm) の添加を行なったが、その結果はまちまちであった。RUSOFF<sup>2)</sup> は Zn-bacitracin の効は、腐敗菌の孢子形成を抑制し、同時に乳酸菌の方は、繁殖を促進するものと推論した。PRATTら<sup>3)</sup> はルーサンやエンバクに、5ppm の Zn-bacitracin を添加して調製したサイレージ

の粗タンパク質の消化率は高かったと述べている。ところで LANGSTON ら<sup>4)</sup>は Zn-bacitracin が選択的に、菌に作用するかどうかの実験を行なったが、*Clostridia* を選択的に抑制するものとは考えられなかったという。DEBUYST ら<sup>5)</sup>は、Nisin の添加 (50~500 g/ton) は効果がなく、Oleandaycin, Streptomycin の効も判りせず<sup>6)</sup>、EMERY ら<sup>7)</sup>は、Tilosin の添加 (2.2 or 10 mg/kg) は、乳酸の第2次発酵による酢酸の生成を抑え、品質をよくし、育成牛にこのサイレージを与えると、平均増体量が多かったという。木部氏<sup>8)</sup>は Chloromycetin, Achromycin などを試みている。

著者ら<sup>9)</sup>も Bacitracin とその耐性乳酸菌、ブドウ糖、ならびに Streptomycin とその耐性乳酸菌、ブドウ糖の混合添加の效果を知る目的で実験を行なったが、総合的にはややサイレージの品質のよいものが得られたが、Bacitracin や Streptomycin 単独の效果は決定することができなかった。

つぎにギ酸カルシウム、亜硝酸ナトリウム剤を主としたサイレージ添加剤は、Kofasalz といわれ、終戦前は主としてドイツにおいて実験が行なわれ<sup>10)</sup>、その後北欧諸国においても実験が行なわれた<sup>11 12)</sup>。その組成はギ酸カルシウムと亜硝酸ナトリウム (20:3) であるとされている<sup>10)</sup>。しかるに終戦後 Kylage という名で、アメリカその他で実験され<sup>13 14)</sup>、わが国にもはいり、実験が行なわれたようである。Kofasalz と Kylage とは、全く同一であるか否かは不明であるが、Kylage もギ酸カルシウム、亜硝酸ソーダを主剤とすることはもちろん、乳酸菌のふ活剤をもふくむものとされている。しかしその効果は必ずしも常にプラスという結果は得られていないようである。

著者らはこれらのことに鑑み、抗生物質として Bacitracin および Neomycin の2種、ギ酸カルシウム、亜硝酸ナトリウム混合剤 (以下 Kylage と記す) の3種の添加効果を検討するため、無添加対照ならびにブドウ糖2%添加の2対照区を設け、比較検討したので、その結果を報告する。

### 実験材料 および 方法

(1) 埋蔵材料 実験に用いた材料は、イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* LAM) の在来種で、1965年6月16日2番刈開花期のもので、NFE/CP 比は3.5であった。材料の成分は、Table 1 のようである。

Table 1. Chemical Composition of Italian Ryegrass which was ensiled

Moisture	Crude protein	Crude fat	NFE	Crude fiber	Crude ash	NFE/CP
(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
68.4	3.7	0.8	12.7	10.6	3.8	3.5
	11.8	2.5	40.2	33.5	12.0	

(2) 供試添加物 Bacitracin は、1.7 g が1g 力価をもつもので、5 ppm 力価に相当する量を、材料の0.1%に相当する Corn starch に混合して埋蔵した。

Neomycin は、1 g が1g の力価をもつもので、5 ppm 力価に相当する量を、材料の0.1%量の Corn starch に混合して添加した。

ギ酸カルシウム・亜硝酸ナトリウム混合剤 (Kylage) は、その主成分はギ酸カルシウム、亜

硝酸ナトリウムおよび乳酸菌賦活剤その他をふくむ混合剤で、水に対する溶解度は約22%で、その溶液の pH は 6.41 を示した。

ブドウ糖は一般市販のものを供用した。

(3) 区別および埋蔵法 刈取は6月16日行ない、1日日乾して、水分を70%を目途に調節した。材料はサイレージカッターで3cmに細切し、17日常法によってガラス製実験サイロに埋蔵した。

試験区別と埋蔵要領は Table 2 のようである。

Table 2. Outline of Ensiling

Treatment	Additives	Italian ryegrass	Silos		Density	Pressure	Notes
			Diameter	Depth			
		(kg)	(cm)	(cm)	(g/l)	(kg/m <sup>2</sup> )	
Control	None	20	29.5	70	418	710	Silo made of glass
Glucose	2 %	20	29.5	71.9	414	710	"
Bacitracin	5 ppm	15	30.0	57.5	369	140	"
Neomycin	5 ppm	15	30.5	57.5	360	140	"
Kylage	0.28%	15	30.0	54.5	389	140	"

このようにして調製したサイレーズを埋蔵後160～222日の間に開いて、収量・品質・飼料価値を調査した。

製品の pH はガラス電極 pH メーターにより、有機酸は FLIEG 法<sup>15)</sup>、全窒素は Kjeldahl 法、アンモニア態窒素は MgO 蒸留法<sup>16)</sup>、アミノ態窒素は Van Slyke 法<sup>16)</sup>、プロビタミン A は藤田法<sup>17)</sup>によった。

なお消化率の査定は、ヤギを実験動物として、全糞採集法をもって実施した<sup>18)</sup>。

### 実験結果 および 考察

(1) 粗収量 でき上りサイレーズの粗収量の調査結果は Table 3 のようである。

Table 3. Crude Yield of the Resulted Silages

Treatment	Yield of the ensiled amount		Top spoilage	Density	Duration of storage
	Weight	Volume			
	(%)	(%)	(%)	(kg/l)	(days)
Control	96.4	83	10	0.49	172
Glucose	96.9	83	17	0.49	165
Bacitracin	96.3	97	4	0.37	172
Neomycin	95.9	97	0	0.37	181
Kylage	96.7	95	6	0.39	222

Table 3 の結果は、重量的には埋蔵時の量に対し95.9～96.9%となり、いわゆる不可視損失 (Invisible loss) は3.1～4.1%で、区間に大差があるとは考えられなかった。5者の比較では、Glucose 添加区と、Kylage 添加区がもっとも低い結果となった。しかし上層の廃棄部につい

ては、Neomycin 区が0であるのに対して、対照区 Glucose 添加区が17%で、Glucose 添加区のとくに多いことがめだった。また Kylage 添加区も6%を示し、Bacitracin 添加区の4%で、いずれもいわゆる Top spoilage を完全に阻止し得る効果のないことが知られた。

(2) サイレージの品質 でき上りサイレーズの廃棄部を除いた部分について、三層にわけて pH, 有機酸含量などを定量した平均値は Table 4 のようであった。

Table 4. Chemical Composition and Quality of the Resulted Silages

Treatment	pH	Moisture	Lactic acid	Acetic acid	Butyric acid	Total acid	Score	Grade
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)		
Control	5.05	71.8	1.59	0.23	1.40	3.41	47	Satisfactory (3rd)
Glucose	4.01	65.6	3.46	0.73	0	4.20	94	Excellent (1st)
Bacitracin	5.33	70.9	2.29	0.41	0.53	3.22	66	Good (2nd)
Neomycin	5.35	71.1	1.52	0.43	1.51	3.47	38	Middle (4th)
Kylage	5.14	69.0	2.65	0.35	0.14	3.14	83	Excellent (1st)

Table 4 の結果によると、pH は Glucose 添加区を除いていずれも高く、5以上となった。乳酸の含量は Glucose 添加および Kylage 添加区がもっとも高く、酪酸量は、Glucose 添加区が0、Kylage 添加区が0.14%で、他の区に比較して低かった。すなわちその発酵的な品質は Glucose 添加区がもっともよく、これは著者らが今日まですでに研究した結果を裏書するものになった<sup>9,19)</sup>。つぎには Kylage 添加区が良い結果を示し、対照区に比較して品質の改善が認められた。GORDONら<sup>13)</sup>は水分の多い材料では効果がないと報告しているが、この場合適水分であったためであろう。しかるに廃棄部を生じなかったにもかかわらず、Neomycin 添加区のサイレーズの品質は、対照区よりも劣る結果を示した。Bacitracin の添加によって、サイレーズの評点は対照区に比較して、やや良好な結果となったが、著者らがさきに耐性乳酸菌と併用した場合にも、効果があるのではないかと推察をした。本研究においても同様の結果となった。RUSOFF<sup>2)</sup>、PRATTら<sup>3)</sup>は Zn-bacitracin の添加の効果を認め、DEXTER<sup>1)</sup>、LANGSTON ら<sup>4)</sup>は必ずしも効果を認めていない。いずれにしても Neomycin も Bacitracin も選択的に菌に作用するものとは考えられないようである。

すなわちサイレーズの評点<sup>20)</sup>は、無添加対照区47点、Glucose (2%) 添加区94点に対し、Bacitracin 区66点、Neomycin 区38点、Kylage 区81点であった。なおサイレーズの品質を官能法<sup>21)</sup>によって鑑定した結果は、対照区48点、Bacitracin 区68点、Neomycin 区41点、Kylage 区81点、Glucose 区93点となり、FLIEG 法<sup>20)</sup>で得られた評点と近い結果が得られた。一般に等級の低い場合は、官能法の結果は、化学法の結果よりも少しく高くなり、等級の高いサイレーズでは、化学法の結果よりも低い結果を示す傾向にあるようである。

この点についてはより多くの結果を集録する必要があるが、官能法も実用的には応用できることを示すものである。

つぎに埋蔵中の粗タンパク質の分解の度を知るため、形態別に窒素の定量を行なった結果は Table 5 のようである。

Table 5 の結果によると、アンモニア態窒素率は、Bacitracin、Neomycin 添加区はそれぞれ20%、22%を示し、対照区とほとんど差がなく、粗タンパク質の分解の多いことを示した。こ

Table 5. Nitrogen Distribution of the Resulted Silages

Treatment	Total nitrogen(a)	Ammoniac nitrogen (b)	Amino nitrogen (c)	(b)/(a)×100	(c)/(b)
	(mg/100g)	(mg/100g)	(mg/100g)	(%)	
Control	568.5	110.0	128.3	19.3	1.2
Glucose	564.4	59.8	80.2	11.4	1.3
Bacitracin	584.4	118.2	89.9	20.0	0.8
Neomycin	597.7	118.1	109.3	21.6	0.9
Kylage	573.5	103.0		17.9	

れに対して Glucose 添加区は11%, Kylage 添加区は18%で、前の評点の傾向と同じであった。しかしタンパク質の分解度は全般的に高い値を示した。アミノ態窒素に対するアンモニア態窒素比についても、同様の品質上の関係を示した。

これらのことは、Bacitracin や Neomycin (いずれも 5 ppm 添加) が、サイレージ発酵の過程において、乳酸菌の繁殖を促進し、*Clostridia* のような菌を抑制する作用があるとの推定を裏づけるものとはいえないようである。またタンパク質を分解する菌を抑制するものとも考えられない。とくに Neomycin はサイレージの品質を改善する効果はほとんどないものと解される。

(3) し好試験 ウシ・ヒツジ・ヤギ・ウサギなどをもって、簡易なし好試験を行なった結果は Table 6 のようである。

Table 6. Palatability of the Resulted Silages

Treatment	Cattles	Sheep	Gosts	Rabbits	Notes
Control	+	++	+	+	+: ate with difficulty
Glucose	++	+++	+++	++	++: ate normally
Bacitracin	+	++	++	+	+++ : ate with gusto
Neomycin	+	++	++	+	
Kylage	+	+++	+++	+	

Glucose 添加区のサイレージがもっともよくし食されたが、これについて Kylage 添加区がよくし食された。抗生物質添加の2区は対照区とほとんど変らない結果であった。

(4) プロビタミンAの含量と保存率 埋蔵材料およびでき上りサイレージにつきカロチンおよびクリプトキサンチンを定量し、埋蔵間の保存率などを計算した結果は Table 7 のようである。

材料のビタミンA価は、5,154 i. u. であるが、対照サイレージは 3,173 i. u., Bacitracin 区では 2,093 i. u., Neomycin 区では 1,011 i. u., Kylage 区では 1,695 i. u./100 g であった。標準添加区として考えた Glucose 添加区は 4,541 i. u./100 g で、もっとも高いビタミンA価を示した。

Bacitracin, Neomycin, Kylage 添加の3区が、いずれも対照区より低い含量を示したことは注目すべき点である。したがってこれら3区の埋蔵中の保存率は、添加区がいずれも対照区

Table 7. Provitamin A Content and Conservation of the Resulted Silages

Grass ensiled				Treatment	Silage					Conservation ratio ①/②×100	
Carotene (mg/100g)	Cryptoxanthine (mg/100g)	Provitamin A (mg/100g)	Vitamin A potency (I.U.100g)		③Provitamin A Conserved (mg)	Vitamin A potency (I.U./100g)	Provitamin A (mg/100g)	Cryptoxanthine (mg/100g)	Carotene (mg/100g)		
3.19	0.19	3.38	5,154	675.0	Control	1.93	0.15	2.08	3,173	399.9	59.2
				675.0	Glucose	2.79	0.16	2.95	4,541	584.3	86.6
				506.3	Bacitracin	1.27	0.11	1.38	2,093	199.0	39.3
				506.3	Neomycin	0.61	0.07	0.68	1,011	96.5	19.1
				506.3	Kylage	1.02	0.10	1.12	1,695	162.1	32.0

より劣る結果を示した。この原因ははっきりしないが、添加区はいずれも対照区に比較して密度が低かったので、埋蔵後の圧力に関係したのかも知れない。これらの点については、さらに研究を要するものと思考される。

著者ら<sup>9)</sup>の従来の研究では、40%以下の保存率ということは起らなかったが、これらの添加物の場合は20~40%にとどまった。Glucose 添加の場合は87%が保存された。

これらの結果から、Bacitracin, Neomycin, Kylage の添加は、Provitamin A 保存の点においては積極的効果はないのみならず、むしろマイナスに作用するのではないかと推察される。この点に関しても、さらに実験をくり返して、結論する必要があるものといえる。

Table 8. Chemical Composition and Digestibility of the Resulted Italian Ryegrass Silages

Lot		Dry matter	Organic matter	Crude protein	Crude fat	NFE	Crude fiber	Crude ash	TDN
Control	Composition (%)	28.2	24.6	2.3	0.7	10.8	10.2	3.7	14.4 (51.1)
	Digestibility (%)	54.3	56.9	52.9	44.3	51.3	65.0		
	Digestible nutrient (%)	15.3	14.0	1.5	0.3	5.6	6.6		
Glucose	Composition (%)	30.2	26.3	3.4	0.9	12.4	9.7	3.9	15.7 (51.9)
	Digestibility (%)	55.0	57.4	57.0	53.8	53.9	62.0		
	Digestible nutrient (%)	16.6	15.1	1.9	0.5	6.7	6.0		
Bacitracin	Composition (%)	29.1	25.3	3.1	1.0	10.9	0.4	3.8	13.9 (47.8)
	Digestibility (%)	50.1	52.1	54.3	62.3	59.1	43.2		
	Digestible nutrient (%)	14.6	13.2	1.7	0.6	6.4	4.5		
Neomycin	Composition (%)	28.9	25.1	3.0	1.0	10.7	10.4	3.8	12.8 (44.3)
	Digestibility (%)	45.9	48.2	52.2	61.2	35.6	58.7		
	Digestible nutrient (%)	13.3	12.1	1.6	0.6	3.8	6.1		
Kylage	Composition (%)	31.0	26.9	3.3	1.2	11.6	10.8	4.1	15.2 (49.0)
	Digestibility (%)	50.6	52.8	54.2	70.6	42.7	61.2		
	Digestible nutrient (%)	15.7	14.2	1.8	0.8	4.9	6.6		

( ) Dry matter basis

## (5) サイレージの消化率と飼料価値

1 頭の去勢ヤギ (1964年 4 月生まれ, 体重約 20 kg) をもって, 常法により全糞採集法をもって<sup>18)</sup>, 消化率の査定を行なった結果は, Table 8 のようである。

Table 8 の結果は, Bacitracin 区, Neomycin 区では, 対照区に比較して消化率が改善されることはなく, むしろ低い傾向にあったことは, 注目すべき点である。この点はこれらの抗生物質がルーメンバクテリアに, 何等かの影響を与えたものか, あるいはその他の要因によるものか, 多分に前者による影響があったものと推定されるが, 今後さらに追究すべきものと思考される。

このようなことから, 乾物中の TDN では, 抗生物質とりわけ Neomycin 添加区が低い結果となった。

Glucose 添加区は品質改善もふくめて, 対照区に比較して消化率がやや高い結果となったが, このことは著者らのさきに報告した傾向と一致するものである<sup>19)</sup>。

## (6) 添加効率 (Additive efficiency)

サイレージの品質評点より, Glucose 添加 (2%) 区を標準 (100) として, 添加効率<sup>9)</sup>を示すと Table 9 のようである。

Table 9. Additive Efficiency of Some Additives

	Amount added	Scores of silage quality	Additive efficiency	
Control	0	47	0 (%)	
Glucose	2 %	94	100	
Bacitracin	5 ppm	66	40	
Neomycin	5 ppm	38	-19	
Kylage	0.28 %	83	77	

Additive efficiency =  $(A - C) / (B - C) \cdot 100$ ; A = Scores of the silage with a given additive, B = scores of the silage with a standard additive (glucose 2%) and C = scores of the control silage without any additive.

すなわち, Bacitracin 40, Neomycin -19, Kylage 77 となった。これら 3 者の比較では, Kylage がもっとも高いことになるが, サイレージの品質改善という点では, 前諸報で報告したように<sup>9 19)</sup>, Glucose 添加の確実であることが知られる。これを実用的に解すれば, 一般に糖質の添加が, より確実であるものと思考される。

これを要するに, Kylage の添加効果が認められ, Bacitracin (5 ppm) もわずかに認められた。しかし, Neomycin (5 ppm) の添加はむしろ望ましいものでないことが認められた。

## 要 約

サイレージを安定に調製するための添加剤として抗生物質およびギ酸カルシウム混合剤 (Kylage) の効果を知るため, イタリアンライグラスを材料に用い, これに Bacitracin 5 ppm 力価, Neomycin 5 ppm 力価, Kylage 0.28% をそれぞれ添加してサイレージを調製し, 無添加対照, 添加対照として Glucose 添加のサイレージと, その品質および飼料価値を比較した。すなわち, でき上りサイレージについて, 化学成分・品質・飼料価値などを調査して, その効果を検

討した。得たる結果の要約はつぎのようである。

1) でき上りサイレージ廃棄量は Neomycin 区が0であるほかは、どの区も相当量生じたが、対照区に比べ Bacitracin, Kylage 区は少なかった。

2) サイレージの品質鑑定の結果は、Kylage 区 83点, Bacitracin 区 66点, 対照区 47点, Glucose 添加区 94点に対し、Neomycin 区は38点になり、Neomycin はサイレージ添加剤として、有効なものでないことが認められた。

3) Bacitracin, Neomycin の添加によって、サイレージの消化率改善は認められなかった。

4) Kylage の添加によって、品質の改善が認められたが、消化率の改善は認められなかった。

5) ウシ・ヤギ・ヒツジ・ウサギをもって簡易し好試験を行なったが、Glucose 添加サイレージがもっともよくし食された外は、各区間に大きな差は認められなかった。

6) Glucose 添加(2%)を標準(100)とする添加効率は、Bacitracin 40, Neomycin 19, Kylage 77%で、添加物3者の比較では Kylage がもっとも高かった。

本実験を施行するにあたり、Bacitracin, Neomycin, Kylage のサンプルを、それぞれ提供された科研化学、武田薬品工業、日本ソーダ各株式会社の各位に対し、深い感謝の意をあらわす。

本報の概要は昭和42年(1967)4月1日日本農芸化学会大会の席上で発表した。

## 文 献

- 1) DEXTER, S. T.: *Agron. J.* 49, 483 (1957)
- 2) RUSSOFF, L. L.: Paper presented at the south-west Regional ACS Meeting, Baton Rouge, Louisiana (1959)
- 3) PRATT, A. P., C. T. SETTLEMIRE and J. W. HIBBS: *J. Dairy Sci.*, 46, 1385—9 (1963)
- 4) LANGSTON, C. W., R. M. CONNER and L. A. MOORE: *J. Dairy Sci.*, 45, 544—7 (1962)
- 5) DE VUYST, A., M. VANBELLE, R. ARNOLD, A. MAESMANS, W. VERVACK and A. MOREELS: *Agricultura*, 13(1), 3—23 (1965)
- 6) WING, T. M. and C. T. WILCOX: *J. Dairy Sci.*, 43(3), 445 (1960)
- 7) EMERY, R. S., L. D. BROWN, R. O. THOMAS and D. STEYERT: *J. Dairy Sci.*, 45(5), 473 (1966)
- 8) KIBE, K.: *Jap. J. Zootech. Sci.*, 37(8), 281—289 (1966)
- 9) 須藤 浩・内田仙二・坂本広司: 岡大農学報, 30, 37—50 (1967)
- 10) PEIFFER, G.: *Biedermanns Zbt. B. Tierern.*, 13, 1—37 (1941)
- 11) MARTIN, J. et al.: *Mededel. Landbouw. Opzoek. Staat. Gent.*, 18(3) 617—648 (1953)
- 12) ERIKSSON, S.: *Kgl. Lantbruksakad. Tidskr.* 92, 213—19 (1953)
- 13) GORDON, C. H., H. M. IRVIN, C. G. MELIN and H. G. WISEMAN: *J. Dairy Sci.*, 40(7) 789—99 (1957)
- 14) MCCARRICK, R. B.: *Irish J. Agr. Res.*, 1(3) 267—82 (1962)
- 15) FLIEG, O.: *Biedermanns Zbt. B. Tierern.* 9(2) 178—183 (1937)
- 16) 東大農化: 実験農芸化学(上)(第4版), 108 (1955) 朝倉書店・東京
- 17) 藤田秋治: ビタミン定量法(初版), 189—205 (1955), 南江堂・東京
- 18) 須藤 浩: 飼料学講義(初版), 71—78, 100—101 (1964), 養賢堂・東京
- 19) 須藤 浩・内田仙二・安則久雄: 岡大農学報, 34, 37—46 (1964)
- 20) FLIEG, O.: *Mitt. d. Verb. Deutscher Landw. Unters. u. Forschungsanstalten*, s. 12 (1952)
- 21) 須藤 浩: サイレージの調製と利用法(第4版), 155 (1966), 養賢堂・東京